UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER N° 69

FACULTÉ DE MÉDECINE

# ÉTUDE CRITIQUE

## SUR LA VALEUR

DE LA

# SÉRO-RÉACTION DE WRIGHT

## THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 25 Juin 1913

PAR

**Louis CABANES**

Né à Vabres (Aveyron), le 28 octobre 1883

**Pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine**

Examinateurs de la Thèse

CARRIEU, *Président.*
GRANEL, Professeur.
LEENHARDT, Agrégé.
EUZIÈRE, Agrégé.

*Assesseurs*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE COOPÉRATIVE OUVRIÈRE
14, Avenue de Toulouse — Téléphone : 8-78

1913

ÉTUDE CRITIQUE

# SUR LA VALEUR DE LA SÉRO-RÉACTION DE WRIGHT

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER N° 69

FACULTÉ DE MÉDECINE

# ÉTUDE CRITIQUE

## SUR LA VALEUR

DE LA

# SÉRO-RÉACTION DE WRIGHT

## THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Le 25 Juin 1913

PAR

**Louis CABANES**

Né à Vabres (Aveyron), le 28 octobre 1883

**Pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine**

Examinateurs de la Thèse { CARRIEU, *Président.* / GRANEL, Professeur. / LEENHARDT, Agrégé. / EUZIÈRE, Agrégé. } *Assesseurs*

MONTPELLIER

IMPRIMERIE COOPÉRATIVE OUVRIÈRE

14, Avenue de Toulouse — Téléphone : 8-78

1913

# PERSONNEL DE LA FACULTÉ

## Administration

| | |
|---|---|
| MM. MAIRET (✲) | DOYEN. |
| SARDA | ASSESSEUR. |
| IZARD | SECRÉTAIRE |

## Professeurs

| | |
|---|---|
| Pathologie et thérapeutique générales | MM. GRASSET (O. ✲). |
| Clinique chirurgicale | TEDENAT (✲). |
| Clinique médicale | CARRIEU. |
| Clinique des maladies mentales et nerveuses | MAIRET (✲). |
| Physique médicale | IMBERT. |
| Botanique et histoire naturelle médicales | GRANEL. |
| Clinique chirurgicale | FORGUE (✲). |
| Clinique ophtalmologique | TRUC (O. ✲). |
| Chimie médicale | VILLE. |
| Physiologie | HEDON. |
| Histologie | VIALLETON. |
| Pathologie interne | DUCAMP. |
| Anatomie | GILIS (✲). |
| Clinique chirurgicale infantile et orthopédie | ESTOR. |
| Microbiologie | RODET. |
| Médecine légale et toxicologie | SARDA. |
| Clinique des maladies des enfants | BAUMEL. |
| Anatomie pathologique | BOSC. |
| Hygiène | BERTIN-SANS (H.) |
| Clinique médicale | RAUZIER. |
| Clinique obstétricale | VALLOIS. |
| Thérapeutique et matière médicale | VIRES. |

*Professeurs adjoints :* MM. DE ROUVILLE, PUECH, MOURET.

*Doyen honoraire :* M. VIALLETON.

*Profes. honoraires :* MM. E. BERTIN-SANS (✲), GRYNFELTT, HAMELIN (✲).

*Secrétaire honoraire :* M. GOT.

## Chargés de Cours complémentaires

| | |
|---|---|
| Clinique ann. des mal. syphil. et cutanées | MM. VEDEL, agrégé. |
| Clinique annexe des maladies des vieillards | LEENHARDT, agrégé. |
| Pathologie externe | LAPEYRE, agr. lib. ch. de c. |
| Clinique gynécologique | DE ROUVILLE, prof.-adj. |
| Accouchements | PUECH, profes.-adjoint. |
| Clinique des maladies des voies urinaires | JEANBRAU, ag. lib. ch. de c. |
| Clinique d'oto-rhino-laryngologie | MOURET, profes.-adj. |
| Médecine opératoire | SOUBEYRAN, agrégé. |

## Agrégés en exercice

| | | |
|---|---|---|
| MM. GALAVIELLE. | MM. LEENHARDT. | MM. DELMAS (Paul). |
| VEDEL. | GAUSSEL. | MASSABUAU. |
| SOUBEYRAN. | RICHE. | EUZIÈRE. |
| GRYNFELTT (Ed.) | CABANNES. | LECERCLE. |
| LAGRIFFOUL. | DERRIEN. | LISBONNE (ch. d. f.). |

## Examinateurs de la thèse :

| | |
|---|---|
| MM. CARRIEU, Président. | MM. LEENHARDT, Agrégé. |
| GRANEL, Professeur. | EUZIÈRE, Agrégé. |

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A MADEMOISELLE MARIE CABANES
MA TANTE

*je dédie ce modeste travail, en témoignage de ma profonde reconnaissance et de ma vive et sincère affection.*

A MA MÈRE — A MON PÈRE

A MON FRÈRE JOSEPH

A MON FRÈRE PIERRE
SA FEMME ET SON FILS

L. CABANES.

A MON ONCLE MONSIEUR HIPPOLYTE CABANES
GREFFIER EN CHEF DU TRIBUNAL CIVIL DE MONTPELLIER

A MA TANTE MADAME HIPPOLYTE CABANES

A MADEMOISELLE MARIE CABANES
MA COUSINE

A MA TANTE
MADAME RAYMOND COFFINIÈRES

A MON ONCLE
MONSIEUR RAYMOND COFFINIÈRES
NOTAIRE A PERPIGNAN

A MA COUSINE HÉLÈNE

A MES COUSINS
JACQUES ET FRANÇOIS COFFINIÈRES

A MA TANTE
MADAME LÉONCE FERRUS

A MON ONCLE
LE COMMANDANT LÉONCE FERRUS
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A MA PETITE COUSINE ANTOINETTE FERRUS

L. CABANES.

A MA TANTE ET A MON ONCLE LOUIS ARNAL

A MON COUSIN ANDRÉ ARNAL

A MONSIEUR L'ABBÉ PAUL ARNAL

CURÉ AU MONNA

A MA TANTE ET A MON ONCLE HENRI ARNAL

A MES COUSINS HENRI, JULES, PAUL ET MARIE

A MA TANTE CLÉMENCE SAVIGNAT
ET A MON ONCLE

A MES COUSINES
JEANNE, MARIE, HENRIETTE ET PAULE JARTON

L. CABANES.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CARRIEU

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GRANEL

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ LEENHARDT

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ EUZIÈRE

L. CABANES.

A LA MÉMOIRE DE MON MEILLEUR AMI
LE DOCTEUR JEAN PY

MEIS ET AMICIS

L. CABANES.

# ÉTUDE CRITIQUE
## SUR LA VALEUR
DE LA
# SÉRO-RÉACTION DE WRIGHT

## CHAPITRE PREMIER

### INTRODUCTION

Nous n'avons pas la prétention, en entreprenant ce travail, de traiter un sujet nouveau et absolument original. Nous nous proposons simplement de mettre au point une question qui a suscité dans le corps médical de nombreuses controverses et créé deux courants d'opinion contraire. Et nous aurons atteint le comble de notre ambition si, à la fin de notre modeste travail, nous avons orienté les esprits vers une opinion intermédiaire.

Dans un premier chapitre nous avons étudié les diverses phases d'engouement et d'abandon par lesquelles successivement est passée cette méthode de diagnostic de la fièvre de Malte. Nous avons cité ensuite les di-

verses techniques opératoires employées jusqu'à nos jours, insistant particulièrement sur celle dont on use tous les jours dans les laboratoires de clinique des hôpitaux de Montpellier. Enfin dans un dernier chapitre nous avons repris les différents résultats des diverses expérimentations, discutant et expliquant leurs avantages et leurs défauts ; et nous avons été amené ainsi insensiblement et naturellement à des conclusions modérées comme il convient d'en porter sur des questions aussi graves encore en suspens.

M. le professeur Euzière, qui fut pendant toute la durée de nos études médicales d'une extrême amabilité à notre égard, nous prodiguant ses conseils et nous soutenant de ses encouragements, a bien voulu nous donner une dernière marque d'estime en nous confiant le sujet de notre thèse. Nous tenons, avant d'entrer dans le développement de notre travail, à lui témoigner toute notre reconnaissance.

Nos remerciements respectueux vont avec plaisir à M. le professeur Carrieu qui, après nous avoir instruit et guidé dans la pratique du noble art médical, a bien voulu nous faire l'honneur d'accepter la présidence du jury de notre thèse inaugurale.

Et enfin nous sommes heureux d'apporter ici le témoignage de notre gratitude envers tous nos maîtres de la Faculté de médecine, et en particulier envers MM. Tédenat, Vallois, Granel et Leenhardt, pour les nombreuses marques de sympathie qu'ils nous ont manifestées.

# CHAPITRE II

## HISTORIQUE

La fièvre de Malte, plus justement appelée fièvre méditerranéenne, ou encore ondulante, est une maladie à symptomatologie si variable, à formes si multiples, pouvant atteindre simultanément ou consécutivement tous les organes, que la clinique est obligée d'avoir recours au laboratoire pour la diagnostiquer. C'est ce qui nous explique pourquoi il ne faut pas rechercher au delà de la seconde moitié du siècle dernier pour en trouver une étude à peu près complète.

Hippocrate cependant, sans la dénommer, semble l'avoir vue et décrite dans son livre « des épidémies ». Il en donne la description suivante : « Une fièvre qui fait son apparition en été et en automne ; elle est continue mais non violente, avec paroxysmes variés et irréguliers. La crise terminale est précoce, vers le vingtième jour, mais parfois elle survient vers le quatre-vingtième jour et même le cent vingtième. La forme est parfois

irrégulière sans crise terminale, puis survient une véritable rechute, puis une seconde crise dans la même période. Quelquefois la maladie se prolonge jusqu'à l'hiver ; alors on voit les malades présenter une déchéance complète à forme hectique. »

Galien ne donne pas de description analogue et ne paraît pas avoir observé la fièvre ondulante.

Quoi qu'il en soit, il faut remonter à 1863 pour avoir une bonne étude clinique de la maladie. Marston paraît l'avoir différenciée de la malaria, de la typhoïde. En 1866, Boileau et Chartres en relatent une série de cas à Malte.

En 1871, les auteurs italiens discutent sur la place à accorder en nosologie à cette fièvre que les uns rattachent à la suette miliaire à cause des sueurs abondantes (Frederici et Galassi), au paludisme (Martini), à la fièvre typhoïde, tandis que d'autres en font une infection spéciale (Reimmo et Somaselli).

Après cette phase clinique pleine d'hésitation, apparaît avec Bruce (en 1887) la phase bactériologique. Celui-ci décrit un micrococcus dont il établit le rôle spécifique. Gipps et Hughes (1893) confirment ces recherches. Wright, en 1897, établit que le sérum de malades atteints de fièvre méditerranéenne agglutine le microbe de Bruce, et crée ainsi le séro-diagnostic de cette maladie.

D'autres procédés de diagnostic de laboratoire apparaissent qui ne sont qu'une application de méthodes déjà connues pour d'autres infections : c'est l'hémoculture avec du sang pris à la circulation périphérique ou par ponction de la rate ; c'est l'examen du micrococcus dans les urines ou les fèces.

Eyre, qui s'est occupé de ce dernier moyen, donne

des résultats inconstants. Dans 7 cas de type chronique il n'y a pas eu de microcoques dans les selles. Il en a trouvé dans un cas qui s'est terminé par la mort au bout d'un mois et demi. D'ailleurs on y voit de mombreuses variétés de colonies dont il faut séparer le melitensis par un sérum fortement agglutiné après émulsion dans une solution saline.

Pour les urines le résultat a été positif dans 9,5 p. 100 des cas. Ce procédé est donc à éclaircir.

L'hémoculture est certainement le meilleur moyen, mais elle n'est pas toujours des plus commodes à pratiquer ; elle exige une iustrumentation spéciale, des conditions que l'on ne peut réaliser que dans un centre de laboratoire.

### Période d'engouement

Reste la séro-réaction de Wright. Cette méthode de technique simple devait dès son apparition s'attirer les faveurs des cliniciens et des expérimentateurs de laboratoire. Et en effet pendant de nombreuses années nous avons assisté à un long défilé d'observations et de publications relatant des résultats quasi merveilleux. Wright, en 1887, présente 14 cas de fièvre ondulante avec séroréaction positive.

En 1898, Aldridge et Elkington publient dans le *Lancet*, l'un 24 cas observés à Malte, l'autre 75 observés à Gibraltar, où le séro positif confirmait le diagnostic clinique.

Eyre l'obtenait positif chez tous les méditerranéens à la fin de la première semaine et à des dilutions de

1/500000, tandis que négatif chez des sujets sains ou atteints de maladies autres que la fièvre de Malte.

Pour donner plus de portée à cette découverte, Durham expérimente avec des animaux. Il inocule la fièvre méditerranéenne à des lapins et des cobayes et voit leur sérum sanguin agglutiner les cultures de micrococcus.

Agrandissant le cercle des investigations, Birt et Lamb opèrent sur des personnes saines et trouvent des séro négatifs. Neusser (de Vienne) reprend la découverte de Wright et affirme que la séro-réaction est positive non seulement pendant la durée de la maladie, mais encore le reste de longs mois et des années même après la guérison. Le séro-diagnostic rétrospectif était possible.

Cette réaction que l'on faisait avec le sérum sanguin donnait des résultats analogues mais moins constants avec la sérosité des vésicatoires ou la salive (Pollacci et Cerant). Les résultats obtenus étaient tellement sensibles et précis que, si elle était positive pour un même sérum en même temps que celle de Widal, on n'hésitait pas à reconnaître l'association des deux maladies, ou plutôt la présence de l'une des deux maladies chez un ancien porteur des germes de l'autre ayant évolué quelques mois ou quelques années auparavant.

Gillot simplifia les recherches et créa la double séro-réaction : « Une même dilution de sérum peut agglutiner le seul micrococcus melitensis s'il s'agit de fièvre de Malte, le bacille d'Eberth s'il s'agit de fièvre typhoïde. La double réaction se reconnaîtrait s'il y avait association de deux maladies. Les agglutinations des deux espèces microbiennes sont en effet très différentes d'aspect, celle du micrococcus étant plus large et plus irrégulière que celle du bacille d'Eberth. »

### Période de réaction

Pendant cette période de succès indéniables, cette méthode, si heureuse pour le diagnostic d'une affection aussi changeante et aussi difficile à voir cliniquement, n'avait pas été sans susciter des contradictions, et en présence de ses partisans enthousiastes se dressaient des ennemis irréductibles. Les expérimentateurs comme Bathey, Konrich, Rousseau, Luticelli, Nicolle et Conte, Vallet, Nègre et Raynaud, Siredey, Laplanche, Laforgue, n'avaient pas trouvé des résultats également favorables, la plupart concluaient à l'infériorité marquée de la séro-réaction de Wright et ne l'accueillaient qu'avec un scepticisme légitime. — En dehors de l'argument le plus important, à savoir l'agglutination du melitensis avec un sérum non spécifique, d'autres reproches ont été faits à la méthode.

Et tout d'abord on sait que le pouvoir agglutinant apparaît cinq jours après le début de la maladie, et il semble que le séro doive être positif ultérieurement pendant toute la durée de la maladie et même longtemps après. Il n'en est rien : on a observé que l'agglutination positive chez un malade peut disparaître un jour pour reparaître le lendemain. C'est là un fait inexplicable que les phénomènes phagocytaires ne parviennent pas à résoudre.

Une autre critique est ce qu'on appelle le phénomène paradoxal. « On rencontre parfois des sérums qui ne produisent aucune agglutination des dilutions faibles au 1/20 et même au 1/10 et qui par contre agglutinent nettement et complètement à des dilutions supérieures. »

(Dubois.) Cette particularité, on la rencontre seulement dans la séro-réaction de Wright, et n'est pas faite assurément pour inspirer la confiance. Enfin des faits bien plus graves mettent en doute la qualité fondamentale de cette méthode : la spécificité. Les divers auteurs déjà cités plus haut, par des faits cliniques nombreux, par des expérimentations poussées chez des non melitococciques, hommes et animaux, sains ou malades, ont montré que l'agglutination se produit dans une culture de micrococcus melitensis. La conclusion s'imposait : le séro de Wright n'est pas spécifique et ne peut donner une certitude absolue.

C'est Critien qui le premier, en 1907, avait constaté deux agglomérations $\left(\text{à } \frac{1}{10} \text{ et à } \frac{1}{20}\right)$ sur 14 cas de tuberculose avérée. Après lui, Lagriffoul, Arnal et Roger l'observent dans la typhoïde, Nicolle et Conte dans le typhus exanthématique, Bantley dans le kola-azar. Vallet, en 1910, écrivait : « L'agglutination du micrococcus est constatée dans un grand nombre de cas, et, pour ma part, c'est à peine si 5 à 10 p. 100 des sérums qui m'ont été envoyés sont restés inactifs vis-à-vis du melitensis. La majorité des sangs adressés ont fourni une séro-réaction positive au 1/50. » Ultérieurement le même auteur constate une agglutination au 1/100 plus ou moins nette au cours d'une épidémie de paratyphoïde B.

Le sérum normal agglutine quelquefois. Saissawa obtient des résultats positifs en opérant sur 6 races bactériennes de souches différentes. Le titre de l'agglutination est d'ailleurs différent suivant l'échantillon et le sérum expérimentés.

Carrieu et Anglada obtiennent des résultats identiques chez 20 sujets non melitococciques avec 5 échantillons de culture. Rimbaud et Vallet opèrent avec 4 races diverses et obtiennent des résultats tels qu'ils concluent à la faillite de la séro-réaction de Wright : d'une part tout sérum de mélitococcique n'agglutine par le melitensis, et d'autre part au contraire beaucoup de sérum normaux l'agglutinent.

Voilà donc une série d'observations qui devraient détruire ou du moins diminuer la valeur de la méthode, si à côté, en parallèle avec elles, d'autres faits ne venaient la rehausser et lui rendre en partie le mérite qu'elle avait antérieurement avec les Anglais.

Soulié en 1905, et Gardon en 1906, dans sa thèse inaugurale, publie un certain nombre d'observations avec séro-réaction positive. Plus récemment, Rouslacroix, en 1912, donne les résultats positifs d'un grand nombre de séro de Wright pratiqué avec des cultures provenant de l'Institut Pasteur. Euzière, depuis le commencement de 1911, a eu l'occasion de faire un grand nombre de séro-réaction de Wright, se servant de cultures provenant de l'Institut Pasteur, et a obtenu beaucoup de cas positifs. Dans un but de contrôle, il a expérimenté la même méthode suivant la même technique sur des typhiques, des bacillaires, des pleurétiques, des pneumoniques, des rhumatisants, des malades atteints d'abcès du foie, d'obstruction intestinale, de cysto-urétéro-pyélite, de névralgie lombo-abdominale, et n'a jamais constaté d'agglutination. Ces résultats sont d'ailleurs identiques à ceux obtenus par Gardon sur ses 10 tuberculeux, par Evangelista chez ses 32 bacillaires, par Basset, Smith, Nicolle chez des malades de même na-

ture. Négative encore a été la séro-réaction recherchée par Gardon, Wright, Smith, Durand de Colles, Birt et Lamb chez des typhiques et paralytiques, et enfin chez des sujets sains par Birt, Lamb et bien d'autres.

# CHAPITRE III

## TECHNIQUE DE LA SÉRO-RÉACTION DE WRIGHT

Nous venons d'étudier les résultats des nombreux travaux qui ont paru sur la valeur du séro de Wright et cette brève revue nous a montré que les conclusions varient presque avec chaque auteur. Quelle est donc la raison de ces divergences et quel est l'élément qu'il faut accuser? Faut-il attribuer aux variations dans la technique les différences des résultats obtenus? La chose n'est pas certaine, mais il semble que, pour juger sainement et pour pouvoir compter sur la fidélité des renseignements obtenus sur la séro-réaction, il faut être en possession d'une technique sûre et s'entourer de précautions infinies comme l'ont bien montré Carrieu et Anglada (*Presse médicale*, 1912) et comme nous essayerons de l'indiquer plus loin. Ainsi est justifiée la place prépondérante que nous faisons dans cette modeste contribution, au chapitre de technique. Nous

allons d'abord décrire les procédés employés par les divers auteurs. Nous essayerons ensuite de mettre en lumière les points qui nous paraissent le plus indispensables à l'obtention de bons résultats. Il nous restera ensuite à indiquer le procédé que nous avons le plus souvent vu employer par nos Maîtres aux laboratoires cliniques de l'hôpital Suburbain.

### A. — Principales méthodes employées

La séro-réaction de Wright, la première en date, est une réaction de sédimentation. La base de cette méthode est la suivante : Prendre du sérum sanguin, le diluer dans une solution saline physiologique. Cette solution sera plus ou moins grande suivant que l'on voudra obtenir une réaction plus ou moins rapide.

D'autre part, émulsionner des cultures de micrococcus melitensis sur agar dans une solution saline normale. Mélanger ensuite à parties égales dans le tube à sédimentation, agiter le mélange et abandonner au repos. Quelques heures après, observer le tube à jour frisant sur un fond obscur. La réaction sera dite positive si on constate un dépôt floconneux au-dessus duquel surnage du liquide clair.

Pour n'omettre aucun détail technique décrit par Wright, nous allons citer in extenso son manuel opératoire.

« On obtient facilement du sang en quantité suffisante, en piquant sur la face dorsale d'un doigt, tout près de l'ongle. On le recueille avec la pipette représentée par la

figure I. En poussant le sang recueilli dans la partie renflée de la pipette, on casse celle-ci aux points *x x* et on la ferme à la flamme ; le liquide se trouvera ainsi renfermé dans une capsule en verre, où on le laissera 24 heures.

» Le sang se sépare en sérum et en caillot ; on brise alors une des extrémités de l'ampoule et on extrait le sérum au moyen d'une pipette capillaire. On pousse le sérum ainsi recueilli dans un verre de montre en soufflant à l'autre extrémité de la pipette. On dilue au 1/5 avec une solution salée normale.

» Il suffit pour cela de remplir la pipette capillaire, quatre fois de suite, d'une quantité de solution salée, égale chaque fois à la quantité de sérum mère dans le verre de montre. Le sérum étant ainsi dilué, on un introduit une petite quantité dans le tube à sédimentation représenté par la figure II et qui a un millimètre de diamètre, afin d'augmenter la hauteur de la colonne liquide.

» Supposons que la quantité de sérum dilué introduite arrive au point *a* du tube III ; on marque ce point au trait rouge. On retourne le tube de façon que sa partie effilée soit dirigée en haut, pour laisser pénétrer une bulle d'air qui doit servir d'index. Le sérum dilué occupe donc dans le tube figure III l'espace compris entre *c* et *d* la bulle d'air étant entre *b* et *c*.

Il s'agit de faire pénétrer maintenant une quantité d'émulsion de culture de micrococcus melitensis égale à celle du sérum dilué contenu déjà dans le tube.

» L'émulsion s'élèvera jusqu'au point *a*. Reste à faire le mélange intime des deux liquides. On aspire deux ou trois fois avec le tube en caoutchouc *T* pour les amener dans la chambre à mélange *Z*. On pousse ensuite le

mélange dans la tige en ayant soin de ne pas souffler trop fort et en obture la pointe à la flamme. On laisse reposer 24 heures dans un support où il y a des tubes témoins, dans lesquels on met de l'émulsion microbienne mélangée à du sérum normal.

» Curry emploie des tubes de 3 ou 4 millimètres et longs de 7 centimètres. Il tue les microbes par la chaleur à 60° pendant un quart d'heure environ, avec addition de 0,5/100 d'acide phénique. Il mélange une goutte de sérum avec XIX de solution saline normale. Puis il ajoute une partie égale d'émulsion de culture et il met le tout dans le petit tube. Il examine à l'œil nu s'il y a précipitation et comme moyen de contrôle il prend, avec un fil de platine, une goutte en haut, une goutte à la partie moyenne et une troisième au fond même du tube et il les soumet à l'examen microscopique. »

Birt et Lambe, modifièrent le procédé vers 1899, après avoir supposé que la réaction de sédimentation devait varier avec le nombre des microbes contenus dans l'émulsion. Ils firent les émulsions exactement de la même façon; prirent le même volume d'agar d'une culture de 5 à 7 jours, émulsionnèrent dans une solution saline normale et stérilisée dans la proportion fixe de 0 cc. 25 par centimètre de gélose. Ils terminèrent en tuant les microbes à une température de 60° pendant 10 à 15 minutes après avoir ajouté 0,5 p. 100 d'eau phéniquée. Il devait y avoir toujours le même nombre de bactéries?

Méthode de Craig. — Craig, en 1903, publia un procédé bien plus simple et plus rapide que les précédents et est à peu près identique à celui de Widal dans la

séro-réaction de fièvre typhoïde. Dans un verre de montre il fait tomber à l'aide d'une pipette quelques gouttes de culture en bouillon et ajoute une goutte du sérum à éprouver. De ce mélange il prend une goutte sur une lame, la recouvre d'une lamelle et l'examine au microscope. Si les microbes sont réunis en amas il y a agglutination. Dans ses multiples expériences, Craig s'est servi de dilutions au 1/75, mais il est à remarquer qu'il obtient des résultats positifs avec des dilutions au 1/250.

Nicole (de Tunis) cultive le melitensis à l'étuve et sur gélose à 36°. Au bout de 3 à 4 jours, la culture retirée, mise à basse température pendant une quinzaine de jours, devenait alors utilisable.

Le mode d'emploi est fort simple. Il mélange dans le tube de gélose quelques centimètres cubes de bouillon ou de sérum physiologique et il agite. L'émulsion se produit naturellement. Il évite la formation d'amas en centrifugeant l'émulsion pendant dix minutes.

Afin de pouvoir apprécier à l'œil nu le résultat, il faut centrifuger le sérum jusqu'à éclaircissement complet.

On ajoutera alors dans le sérum absolument clair les proportions de 1 pour 1, 1 pour 5, 1 pour 10, 1 pour 20, 1 pour 50, 1 pour 100. On peut examiner après 16 à 20 heures de repos.

Si le résultat est positif, une poussière fine s'est déposée au fond du tube et le liquide est resté très clair.

Le procédé de Gillot, connu sous le nom de double séro-réaction, est fort simple et identique aux deux séro-réaction de Wright et de Widal.

*Technique du laboratoire.* — Le principe de la méthode que nous avons vu employer par nos Maîtres est le même que celui de la technique de Wright. Les divers temps de l'opération sont identiques aussi, mais de nombreuses modifications y ont été apportées et en ont fait une méthode de choix.

Le *premier temps* est la prise du sang chez le sujet à examiner. On le prélève soit par une piqûre à la pulpe d'un doigt, soit par ponction de la veine médiane, céphalique ou basilique, dans des tubes stérilisés. Malgré l'opinion de Widal et Sicard, cette précaution n'est pas inutile. On extrait le sérum, on le clarifie par centrifugation et filtration de façon à avoir un sérum d'une clarté absolue.

Le *deuxième temps* consiste à préparer la dilution du sérum au dixième avec de l'eau distillée et non avec une solution saline ; chauffer cette dilution de sérum à 56° de façon à détruire les agglutinines non spécifiques.

Le *troisième temps* est le plus complexe : préparation de la culture, émulsion de cette culture et mélange au taux voulu de la culture et de l'émulsion.

La culture doit être jeune de 3 à 5 jours, sur agar et non en bouillon peptonisé. Le microcoque ayant servi à à la donner doit avoir été extrait récemment de l'organisme humain, ou rajeuni par passages successifs chez l'animal.

On émulsionne dans un tube cette culture avec quelques centimètres cubes d'eau distillée. L'émulsion est prête quand elle présente le même trouble qu'une culture en bouillon de bacilles d'Eberth de 12 à 15 heures.

On prend alors de cette émulsion avec une pipette capillaire et on verse goutte à goutte dans des tubes contenant la même quantité de sérum dilué au dixième.

| | | | |
|---|---|---|---|
| 7 | gouttes | donnent le taux au | 80e |
| 9 | — | — | 100e |
| 14 | — | — | 150e |

On agite violemment et on laisse au repos pendant 24 heures. Au bout de ce temps on peut vérifier à l'œil nu le résultat : la réaction est positive si une fine poussière s'est déposée au fond du tube tandis que le liquide s'est clarifié ; négative, au contraire, si aucun changement n'est survenu dans l'aspect trouble du liquide.

Comme moyen de contrôle, on doit vérifier le pouvoir agglutinatif du même sérum avec plusieurs cultures.

### B. — Critique de ces procédés

Si dans beaucoup de travaux récents la valeur de la séro-réaction a été battue en brèche, c'est qu'on ne s'était pas suffisamment préoccupé pour y remédier des inconvénients des méthodes précédentes.

A. — *Fréquence des agglutinations non spécifiques.*

Dès le début des discussions sur la valeur du séro-diagnostic cette objection a été le plus fréquemment observée. De très nombreuses recherches ont été effectuées dans ce sens et sont venues avec des résultats variables ; soit que des sérums de non micrococciques sains ou malades aient agglutiné le melitensis, soit que

des malades atteints de fièvre ondulante avérée aient donné un séro négatif, même à faible dilution.

Dans notre premier chapitre nous avons donné une nomenclature de ces auteurs et de leurs résultats ; nous nous bornerons ici, pour éviter toute répétition, à expliquer leurs errements. Et tout d'abord, puisque nous savons avec Neusser (de Vienne) que la séro-réaction a une action rétrospective, pourquoi ne dirions-nous pas que tel sérum qui peut paraître normal aujourd'hui a été micrococcique dans un temps antérieur et doit par conséquent agglutiner. L'explication est simple, logique et plein de bon sens. La forme larvée de la fièvre de Malte est-elle si rare ? et d'ailleurs ne savons-nous pas que certains individus font leur maladie debout, sans cesser leurs occupations journalière, de telle sorte qu'elle passe inaperçue non seulement pour l'entourage mais pour le malade même. Et s'il en est ainsi pour le sérum prétendu normal, il peut en être de même pour le sérum de malade. De plus nous avons pour ceux-ci une autre explication.

Dans les cas d'agglutination, lorsqu'on a affaire à une infection bien déterminée autre que la mélito-micrococcie, n'est-il pas possible d'interpréter le fait et d'admettre qu'il y ait association des deux maladies : tuberculose et fièvre de Malte, typhoïde et fièvre ondulante par exemple? Critien a employé cette hypothèse pour ses tuberculeux ; Lagriffoul, Arnal et Roger l'ont émise pour leur cas de typhoïde ; et jusqu'ici aucune expérience n'est venu détruire leur conception.

De plus, des travaux ultérieurs ont apporté des éclaircissements qui permettent de juger sainement. Deux notions nous paraissent être capitales parmi les acquisi-

tions des dernières années. Rouslacroix a eu le mérite d'attirer l'attention sur elles un des premiers.

*a*) *Le mode de contrôle.* — Tout le monde est d'accord pour refuser une valeur aux expériences de Nègre et Raynaud qui tablent sur l'examen microscopique pour rechercher l'agglutination. « Cette façon de procéder, dit Rouslacroix., excellente pour un bacille d'Eberth ou le vibrion diolenge, dont l'immobilisation puis la réunion en amas ne laisse sur le champ du microscope aucun doute à l'observateur, devient défectueuse vis-à-vis de l'émulsion d'un fin coccus qui présente une tendance manifeste à la formation de faux amas sous une influence dermiotactique des plus légères. » Il est vrai de dire que la plupart des auteurs qui se sont occupés des agglutinations non spécifiques n'avaient pas employé le contrôle microscopique ; l'objection reste donc et cet argument de Rouslacroix n'a, en somme, qu'une importance minime, une simple valeur de mise au point et de précision technique.

*b*) *Le taux de dilution des cultures.* — C'est le point capital sur lequel on ne s'entend pas. Il est bien certain que, dans tout ce qu'ont écrit les auteurs, cette notion prédomine et influe constamment sur les résultats. A ce sujet, les opinions les plus contradictoires ont été émises. Mais l'article de Carrieu et d'Anglada donne d'importantes précisions. A l'heure actuelle, on ne se contente plus, comme on l'a fait, des réactions au 1/10 ou 1/15. Ce n'est pas tant l'agglutination que le taux auquel elle se produit qui est spécifique. Ce qui importe surtout, c'est de savoir s'il faut, comme l'ont demandé certains médecins, Rouslacroix, Nègre et

Raynaud, étendre les dilutions au 1/200-1/400. Anglada, qui a expérimenté ce point de technique, trouve sur 156 malades à 1/80, 57 % de réactions positives ; à 1/150, 12,82 ; à 1/700, 7,05. Donc l'élévation du titre des dilutions est un excellent moyen d'éviter la non-spécificité des agglutinations. Faut-il cependant arriver aux titres anormalement élevés que proposait Eyre, 1/500,000. Evidemment non, car on dépasserait de beaucoup le pouvoir agglutinant du microcoque. Gardon est arrivé jusqu'à 1/9000 ; Rouslacroix, sur 14 malades, varie de 1/100 à 1/200 ; Maugnat et Pégurier, 1/200 ; Danlos, Würtz, Tanon, 1/300 ; Rousseau, Langwelt, 1/100 ; Sicard et Lucas, 1/200 à 1/250 ; Agasse, Laffort et Weill, 1/100 ; Guillain et Troisier, 1/500 ; Courmont, Mézy et Mazel, 1/100 ; Weill et Ménard, 1/1200, 1/1700 ; Saissawa a cité fréquemmem les titres de 1/2000 à 1/3000 : résultats disparates.

Ainsi se précisent les lignes délimitant ce point de technique et le problème se trouve renfermé dans ces deux faits : d'une part, avoir un titre assez élevé pour éviter les agglutinations non spécifiques, et, d'autre part, ne pas dépasser le pouvoir agglutinant du microbe. Carrieu et Anglada pensent qu'il faut : « exiger au minimum une agglutination de 1/200 et mieux encore supérieure ». Euzière et Roger ont pratiqué un assez grand nombre de réactions au 1/75 et ont été très satisfaits de leurs résultats : les séro-diagnostics obtenus étaient pleinement d'accord avec la clinique et ont été dans plusieurs cas confirmés par l'hémoculture. Il faut dire toutefois que, sur 21 malades non mélitococciques, 7 ont présenté l'agglutination positive au 1/75.

c) *Un dernier point reste à préciser.* — C'est la des-

truction, par le chauffage à 56° du sérum, d'une agglutinine non spécifique qui serait la cause des agglutinations non spécifiques. Cette hypothèse d'une agglutinine banale émise par Nègre et Raynaud n'est pas absolument démontrée. Mais ce qui importe, c'est de savoir ce que l'on peut attendre de cette méthode du chauffage du sérum à 56°.

Des expériences, à cet effet, de Nègre et Raynaud sont quelque peu concluantes, car ces auteurs ont vu disparaître par chauffage le pouvoir agglutinant d'un sérum non mélitococcique. Saissawa a repris avec succès ces expériences. Anglada a aussi obtenu d'excellents résultats par ce procédé. Et Carrieu et Anglada concluent ainsi leur étude sur ce point : « Dans l'ensemble des cas, le procédé Nègre et Raynaud a donné une très forte valeur diagnostique. »

Ainsi donc cette objection considérable des agglutinations non spécifiques n'a pas toute la valeur qu'on a essayé de lui attribuer. Il n'est pas moins vrai qu'elle reste et que sa possibilité laisse planer un soupçon sur la valeur de la réaction de Wright. Toutefois il est bon de savoir que l'application d'une technique rigoureusement réglée peut en réduire considérablement la portée.

### *B. — Diversité des résultats suivant les races de micrococcus melitensis.*

Avec cette notion nous entrerons dans un chapitre qui n'est pas encore classique. Soulié, en 1911, émit cette hypothèse dans le *Bulletin médical de l'Algérie :* « La

diversité des résultats obtenus par Nègre et Raynaud ne peuvent être expliqués que par la différence de race de micrococci. » M. le professeur Euzière à son tour et sans avoir connaissance de l'étude de Soulié a dirigé ses travaux de ce côté-là. Il isola par hémoculture deux micrococci et il obtint des résultats tout à fait en désaccord avec la clinique. 21 réactions furent tentées suivant la même technique, 7 furent positives chez des malades ne pouvant être suspectés de fièvre de Malte : c'était une endocardite infectieuse, une cirrhose hypertrophique, trois dothiénentéries ; le diagnostic est encore hésitant au sujet des deux autres.

Le point de départ de cette hypothèse est dans l'observation d'expériences. Or, pour qui a pratiqué un assez grand nombre de réactions de Wright, il est évident que chez des malades nettement mélitococciques, on obtient, suivant les cultures employées, des résultats différents. Dans un service hospitalier, suivant les époques, les résultats varient avec les cultures, fait contrôlé par tous les observateurs. De là à admettre des races microbiennes différentes il n'y avait qu'un pas. Au surplus, l'hypothèse se soutenait bactériologiquement par les analogies nombreuses que les travaux contemporains ont décelées : à côté du méningocoque on trouvait plusieurs races voisines que seules des réactions délicates arrivent à différencier. Il en est de même pour le bacille d'Eberth. L'agglutination varie suivant les échantillons de bacilles.

A cette cause d'erreur, on peut encore remédier. Carrieu et Anglada ont proposé en effet de rechercher le pouvoir agglutinant sur plusieurs échantillons (6 en moyenne). Cette expérience est basée sur le principe suivant : le sérum d'individus non mélitococciques agglutine les diverses races de culture de melitensis dans des

proportions très variables tandis que le sérum d'un malade atteint de fièvre de Malte agglutine les diverses races dans les proportions sensiblement les mêmes ; et les variations dans les échantillons sont d'autant plus faibles que l'individu présente une infection mélitococcique plus nette.

*Exemple.* — Pour un sérum non mélitococcique, les agglutinations, selon les cultures, varieront d'une proportion de 1/10 à 1/200. Tandis que pour un sérum spécifique les 6 échantillons seront parallèlement agglutinés dans la proportion de 1/500.

Les auteurs de cette méthode ont obtenu dans une série de cas des agglutinations élevées avec le sérum de quatre mélitococciques. Mais ces mêmes cultures ne présentaient pas au 1/80 les différentes agglutinations sensibles avec des sérums normaux.

Dans une seconde série d'expériences ils ont obtenu avec des sérums spécifiques même titre d'agglutination, tandis que sous l'influence de sérums normaux l'agglutination s'est faite dans des proportions très variables.

D'après leurs recherches on peut donc conclure que si un même sérum donne des taux agglutinatifs peu élevés et inégaux pour un certain nombre de cultures, il n'est pas mélitococcique ; au contraire, un sérum sera spécifique lorsqu'il donnera pour plusieurs échantillons des agglutinations élevées et parallèles.

# CHAPITRE IV

## CONCLUSIONS

Les conclusions pratiques qui se dégagent de la comparaison des expériences des différents auteurs qui se sont occupés de la question nous paraissent être les suivantes.

Le séro de Wright mérite tout le bien et un peu du mal qu'on a dit de lui. Et le parti pris de certains expérimentateurs explique leur acharnement à le combattre.

Aussi, de même que nous ne le chasserons pas d'une façon exclusive des laboratoires, nous nous garderons de lui reconnaître une valeur absolue et irréfutable.

D'une part, en effet, elle n'est pas absolue puisque les résultats ont varié suivant les procédés, suivant l'âge des cultures, suivant les races des microbes employés et suivant les associations des entités morbides ; d'autre part cependant cette valeur est indéniable, car elle a été vérifiée par de nombreuses expériences et a souvent confirmé les diagnostics cliniques.

Mais pour obtenir ces résultats satisfaisants il est nécessaire de s'entourer de certaines précautions dans la technique opératoire, d'apporter une grande attention dans la sélection des races, évitant d'employer tant celles qui offrent une trop grande facilité d'agglutination que celles qui présentent une résistance opiniâtre à cette même agglutination ; n'utiliser que des cultures jeunes sur agar. Enfin n'expérimenter qu'avec des solutions de sérum à un taux déterminé relativement assez élevé, variant entre 1/75 et 1/100.

C'est, croyons-nous, la seule façon d'utiliser avec profit ce procédé de diagnostic de laboratoire, si précieux pour dépister une affection dont la variabilité et les allures cliniques troublent la praticien le plus expérimenté.

# BIBLIOGRAPHIE


Anglada. — Société de biologie, 2 mars 1912.

— Gaz. des hôp., 16 avril 1912.

Aldridge. — Lancet, mai 1898.

Auclair et Braun. — Académie des sciences, 27 déc. 1909.

Bentley (Ch.). — Kala-Azar as an analogous disease to Malta fever.

— The journal of trop. med., 1er janv. 1903.

Bensis. — Société médicale des hôpitaux de Paris, 8 octobre 1909.

Birt et Lamb. — Lancet, 1899, vol. II.

— The medical Review of Reviews, 1899, n° 13.

Bordet. — Annales de l'Institut Pasteur, n° 6, 1895.

Brault. — Maladies des pays chauds, 1898.

— La fièvre ondulante à Alger (Archives générales de médecine, nov. 1903).

Bruce. — Annales de l'Institut Pasteur, 1893.

Carrieu et Anglada (Nîmes). — Congrès de l'Association française pour l'avancement des sciences, 5 août 1912.

— Presse Médicale, 2 novembre 1912.

Courmont (P.). — Thèse Lyon, 1897.

Conor. — Société de méd. milit. franç., 5 janv. 1911.

Charrin et Roger.—Société de biologie, 1889. C. R., T. IV, p. 910.

Craig. — American of medical sciences, janvier 1903.

Critien. — Some observations on blood serum reaction in tuber and medit. fever in Malta (Journal of trop. med. and hyg., 1er juin 1907).

Dieulafoy. — Société de médecine, 8 juillet 1896.

Danlos, Wurtz et Tanon. — Société méd. des hôpitaux de Paris.

Dubois. — Etude sur la fièvre de Malte dans le Gard (Rapport au Conseil général, Nimes, imprimerie coopérative La Laborieuse, 1910).

Durand de Cottes. — Clin. med. Zaragozza, 1909.

Durham. — Journal of pathology and bacteriology, décembre 1898.

Dunbar. — Deut. med. Woch., n° 9, 1895.

Euzière et Roger. — Grandeur et décadence de la séro-réaction de la fièvre de Malte (Gazette des hôpitaux, 20 février 1912).

Eyre. — Bibliographie of Mediterranean fever, 1837-1907.

Evangelista. — Le pouvoir agglutinant du sérum des tuberculeux sur le coccus melitensis (Riforma med., 30 août 1909).

Gardon. — Etude de la séro-réaction dans la fièvre de Malte (Thèse de Montpellier, 1905-06).

Gillot. — La fièvre de Malte (Association française pour l'avancement des sciences, Cherbourg, 1905).

Gillot. — De la double séro-réaction (Bulletin médical de l'Algérie, 1905, n° 375).

Giorgio-Memini. — La sperimentale, LXV, 1912.

Gouget, Agasse, Laffort et Weill. — Société médicale des hôpitaux de Paris, 10 décembre 1910.

Guillem-Troisier. — Société de biologie, 4 décembre 1909.

Hayat. — Thèse Montpellier, 1903.

Kelsch et Kiener. — Traité des maladies des pays chauds, 1889.

Kolle et Pfeiffer. — Zeitschrift für Hygien. Bd. 21, 1896.

Konrich. — Zeit, 1904.

Lagriffoul, Arnal et Roger. — Fièvre de Malte et fièvre typhoïde (Soc. de biol., 29 janv. 1910).

Laplanche. — Soc. de méd. milit. franç., 1911.

Legrain. — Revue médicale de l'Afrique du Nord, 1898.

— Ibid., 1900.

— Introduction à l'étude des pays chauds, 1900.

Lemaire. — Bull. méd. de l'Algérie, 1905.

Loeffler et Abel. — Centralbl. f. Bakt., nos 2-3, 1896.

Lutigelli. — Contribution à l'étude de l'infection expérimentale par le melitensis. Considérations sur la spécificité des anticorps (Riforma med., 12 juillet 1909, p. 757).

Manoussos. — Le Caducée, mai 1903.

Metchnikoff. — Annales de l'Institut Pasteur, 1891, p. 473.

Modinos. — Presse médicale, 6 décembre 1911, p. 1006.

Neusser. — Compte rendu du Congrès de Wiesbaden, 1900, p. 157.

Nègre et Raynaud. — Annales de l'Institut Pasteur, 1911.

— Soc. de biologie, 27 avril 1912.

— Ibid., 27 juin 1912.

Nègre. — Soc. de biol., 17 déc. 1910.

Nicolle et Hayat. — Soc. de biol., 23 juillet 1905.

Pamart. — Thèse sur la séro-réaction de Widal, Paris, 1899.

— Progrès médical, 1900.

Pfeiffer et Isaeff. — Zeitschrift für Hygien, Bd. 17, 18, 19.

— Deut. med. Woch., n° 38, 1894.

Pollacci. — La reazione agglutinante et l'emobatterioscopia nella diagnosi delle febre mediterranea, Palerme, 1909.

Pollacci et Ceraulo.— Centr. f. Bakt., 1909, t. II, p. 269.

Roger. — Fièvre de Malte (Gazette des hôpitaux, 22 et 29 janvier 1910).

Rendu. — Société médicale des hôpitaux, 4 juillet 1896.

— Revue des sciences médicales, 1887, 1896.

— Semaine médicale, 1897, p. 446.

Saissawa. — Zeitsch. f. Hygien, 28 déc. 1911, oct. 1912.

Samest. — Lancet, 1911.

Soulié (H.). — Société méd. Algér. (Bull. méd. Algér., 30 juillet 1905).

— Bull. méd. Alg., 15 mai 1906, p. 272.

Soulié et Gardon. — Communication à la Société biologique de Paris, 14 avril-2 mai 1906.

Weill et Ménard. — Société médicale des hôpit. de Paris, 17 mai 1912.

Widal. — Société méd. des hôp. de Paris, 26 juin 1906.

Williams. — Journal of the Roy. arm. med. corps, juillet 1904.

Wright. — British medical Journal, mai 1897.

— British medical Journal, février 1898.

— Lancet, mars 1897, p. 656.

— Lancet, septembre 1899, p. 451.

---

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, le 19 juin 1913.
Le Recteur,
Ant. BENOIST.

Vu et approuvé :
Montpellier, le 19 juin 1913.
Le Doyen,
MAIRET.

# SERMENT

*En présence des Maîtres de cette École, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque!*